

PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11)Publication number : 2001-264293

(43)Date of publication of application : 26.09.2001

(51)Int.Cl.

G01N 27/447

(21)Application number : 2000-084682

(71)Applicant : HITACHI LTD

(22)Date of filing : 22.03.2000

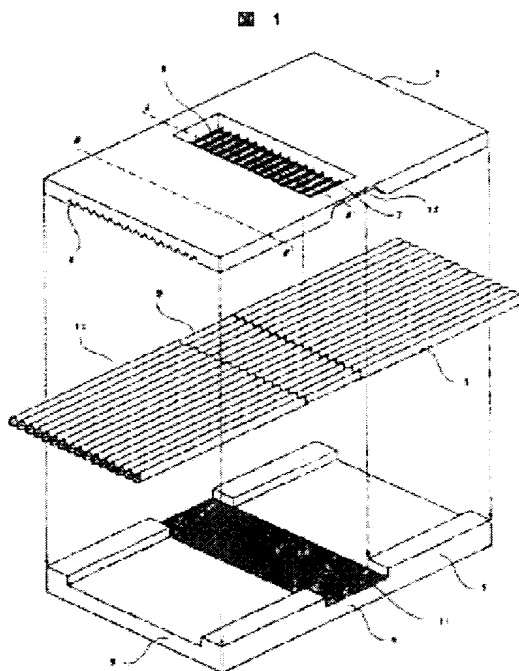
(72)Inventor : UKAI SEIICHI
MORIOKA TOMONARI
SHIMIZU YASUSHI
KITA TOSHIAKI
TSUKADA SEIJI

(54) CAPILLARY ARRAY ELECTROPHORESIS DEVICE

(57)Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To provide a window base board for a capillary array cutting off background light so as to facilitate incidence of an excited laser beam and to improve an S/N ratio of an electrophoresis device by using the window base board for the capillary array.

SOLUTION: In a holding base board constituting a window unit for the capillary array, light shielding areas each spaced at a pitch equal to an arrangement interval of a capillary 1 are arranged in a through window 6 for passing emitted light, and a window 12 for incidence of an excited laser beam is arranged on the base board side face. In this way, background light is reduced because reflected light on the surface of the capillary 1 is cut off by means of the light shielding areas 7 in the holding base board, and the S/N ratio can be improved. In addition, incidence of a laser beam is facilitated and the degree of freedom of an optical system arrangement is increased, so that assembly can be carried out easily.



(19) 日本国特許庁 (J P)

(12) 公開特許公報 (A)

(11) 特許出願公開番号

特開2001-264293

(P2001-264293A)

(43) 公開日 平成13年9月26日 (2001.9.26)

(51) Int.Cl.⁷

G 0 1 N 27/447

識別記号

F I

G 0 1 N 27/26

テーマコード* (参考)

3 3 1 K

3 1 5 K

3 2 5 B

3 3 1 E

審査請求 有 請求項の数 6 O L (全 7 頁)

(21) 出願番号 特願2000-84682 (P2000-84682)

(22) 出願日 平成12年3月22日 (2000.3.22)

(71) 出願人 000005108

株式会社日立製作所

東京都千代田区神田駿河台四丁目6番地

(72) 発明者 鶴飼 征一

茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株

式会社日立製作所計測器グループ内

(72) 発明者 盛岡 友成

茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株

式会社日立製作所計測器グループ内

(74) 代理人 100074631

弁理士 高田 幸彦 (外1名)

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 キャピラリアレイ電気泳動装置

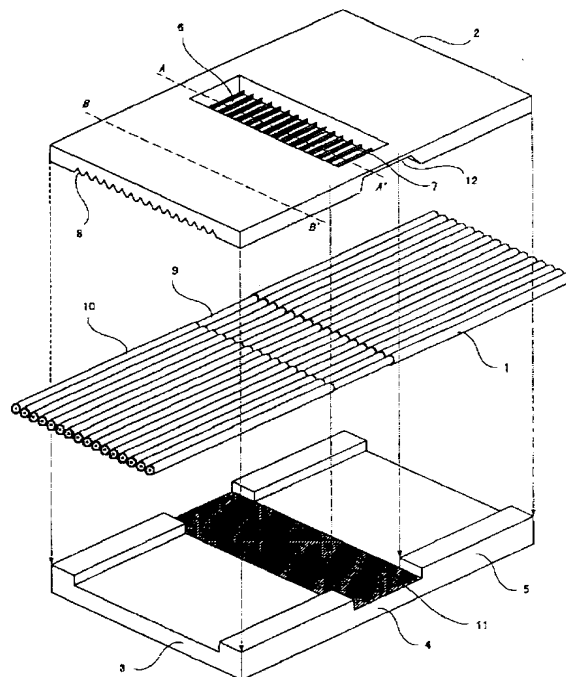
(57) 【要約】

【課題】 背景光をカットし、励起レーザ光の入射を容易にするキャピラリアレイ用のウィンド基板及びこれを用いて電気泳動装置の S N 比改善を実現する。

【解決手段】 キャピラリアレイのウィンド・ユニットを構成する保持基板には、発光が通過する貫通窓 6 にキャピラリ 1 の配列間隔と同じピッチで遮光領域を設け、さらに励起レーザ光入射用の窓 12 を基板側面に設ける。

【効果】 保持基板の遮光領域 7 によりキャピラリ 1 の表面での反射光を遮って背景光を低減し、S N 比を向上させることができる。さらにレーザ光の入射を容易にして光学系の配置に裕度を持たせ、組立を簡単にする効果がある。

図 1



【特許請求の範囲】

【請求項1】 複数のキャピラリを保持し、信号光が通過する開口部を有するキャピラリ保持基板において、前記開口部にはキャピラリ間の信号光を遮る遮光領域を設け、かつ励起光導入用の切欠き部を設けたことを特徴とするウィンド基板、及び複数のキャピラリと前記ウィンド基板が支持または、固着されたことを特徴とするウィンド・ユニット。

【請求項2】 請求項1記載のウィンド基板において、キャピラリ位置決め用のV溝が設けられていることを特徴とするウィンド基板及びこれを用いたウィンド・ユニット。

【請求項3】 請求項1及び請求項2記載のウィンド・ユニットにおいて、ウィンド基板と対向して別基板を設け、前記複数のキャピラリをウィンド基板と前記別基板によって挟持したことを特徴とするウィンド・ユニット。

【請求項4】 複数のキャピラリと請求項1または3記載のウィンド・ユニットと、前記キャピラリの一方の端に接続された試料注入口と、異なる一方の端に接続された緩衝液注入口とを備えたことを特徴とするキャピラリアレイ・ユニット。

【請求項5】 請求項4記載のキャピラリアレイ・ユニットと、励起光学系と、キャピラリ内を満たした試料から発生する信号光を検出する受光光学系とを備え、励起光はビーム状であり、ウィンド基板の外部から請求項1記載のウィンド基板切欠き部を通過して入射させたことを特徴とするキャピラリアレイ電気泳動装置。

【請求項6】 請求項1記載のウィンド基板の励起光導入用切欠き部に光ファイバを固定または支持し、この光ファイバによって励起光をキャピラリに照射することを特徴とするキャピラリアレイ電気泳動装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】 本発明はDNA、蛋白質等の試料を分離分析するキャピラリアレイ電気泳動装置に関するものである。

【0002】

【従来の技術】 特開平09-096623号公報に記載されたキャピラリアレイ電気泳動装置は、複数本のキャピラリを平面状に配列したキャピラリアレイとレーザ光源等から成る励起光学系、及び信号光である蛍光を検出する受光光学系から構成される。この例は、蛍光試料の入ったキャピラリに側面からレーザを照射し、キャピラリのレンズ作用によってレーザを集光させることにより、すべてのキャピラリにレーザを照射し、各キャピラリからの蛍光を受光光学系によって検出するものである。

【0003】 米国特許5790727 (Aug. 4, 1998) は、レーザの照射方向と垂直方向に出る試料か

らの蛍光を光ファイバで受光する装置である。この例では光ファイバからなる光抽出器を蛍光検出方向に取り付けることにより、キャピラリ表面からの反射光を光抽出器に入射させないようにし、背景光の低減を試みている。

【0004】

【発明が解決しようとする課題】 特開平09-096623号公報の方式では、レーザの照射による試料からの蛍光の一部はキャピラリ表面で反射されるため、これが背景光増加の要因となり、検出精度の低下を招いていた。

【0005】 また、米国特許5790727 (Aug. 4, 1998) の方式は、キャピラリアレイは消耗品であるのに対し、光ファイバからなる蛍光検出器は装置備品であるため、キャピラリアレイを交換する度に、キャピラリ中心軸と、検出側の光ファイバの中心軸とを位置合わせする必要がある、ユーザにとっては使い勝手の良いものではなかった。

【0006】 本発明の目的は、背景光の低減によりS/N比を向上させ、検出精度の高いキャピラリアレイ電気泳動装置を提供するとともに、本装置へのキャピラリの取り付け及び励起光学系の導入を簡便化し、使い勝手のよいキャピラリアレイ電気泳動装置を提供することである。

【0007】

【課題を解決するための手段】 キャピラリアレイ用の保持基板に信号光（蛍光）が通過する開口部（窓）を形成し、キャピラリ表面からの反射光を遮るための遮光領域を各キャピラリ間に設け、窓とキャピラリとの位置合わせを容易にするためキャピラリ位置決め用のV溝を形成し、さらに基板側面には入射レーザ用の切欠き部を設けたものである。

【0008】

【発明の実施の形態】 以下、本発明の実施形態を図を参照して詳細に説明する。

【0009】 (第1の実施形態) 図1は、本発明の第1の実施形態であるウィンド・ユニットの説明図である。大別してキャピラリ1（本実施例では16本）、ウィンド基板2、ガラス基板3から構成される。図2は図1に示すウィンド基板2を裏から見た説明図、図3は断面図であり（a）、（b）はそれぞれ、図1のレーザ照射部A-A'と非照射部B-B'に対応している。まず構成について説明する。

【0010】 図1に示すように、ウィンド基板2は、光が通過する貫通窓6をキャピラリ1の配列間隔と同じピッチで形成し、それぞれの貫通窓6にはキャピラリ1の位置決め用としてV溝8を形成する。これら貫通窓6は遮光領域7により各キャピラリごとに仕切られている。さらにウィンド基板2の側面には励起用のレーザ入射を容易にするため切欠き部12を設けている。キャピラリ

1は、ウィンド基板2のV溝8に収まるように配列し、その反対側からガラス基板3により、キャピラリを挟み込むように接着剤により固定する。キャピラリ1は溶融石英管9と被覆（ポリイミド樹脂）10から成る。貫通窓6に対応した領域は、励起レーザ光及び蛍光を妨げないようにポリイミド樹脂10を除去している。ガラス基板3はこの領域での反射光を抑えるため、すりガラス面11とした。

【0011】次に遮光領域7の効果について説明する。実験に用いたキャピラリ1は外径0.36mmのサイズである。測定試料はウレア溶液を用いた。ここで、ウレア溶液とは電気泳動させる時に用いる緩衝液の代用であり、両者の屈折率はほぼ等しい。図11は波長584nm（水のOH伸縮振動による蛍光）の蛍光強度特性を示す。横軸は平面状に配列されたキャピラリ1の配列番号、すなわち配列位置であり、縦軸は最大蛍光強度で規格化した相対蛍光強度を示す。（a）図は、ウィンド基板2を設けていない従来の蛍光発光特性で、背景光強度はキャピラリ蛍光強度の約20%であり、キャピラリ間には雑音もある。一方、（b）図は、ウィンド基板2を設けた時の特性で、遮光領域7を設けたことにより、キャピラリ表面の反射光が遮られるために、背景光強度は約10%にまで低減させることができた。さらに、キャピラリ間の雑音も抑制させることができた。これによりS/N比が向上し、蛍光強度のより小さな信号を検出することが可能となり高精度測定が実現できる。

【0012】次に、レーザ照射窓12の効果について説明する。レーザ照射窓は図2に示すように、ウィンド基板2の側面にキャピラリ配列溝8と直交方向に形成する。図3(a)はレーザ入射部の断面、(b)図は非入射部の断面である。比較のため、入射窓12を設けない例を図4に示した。入射窓12が無い場合、キャピラリに到達させるためのレーザ33の入射角は厳しく制限されるが、照射窓12を設けることにより入射角 θ の許容度が広がる。これにより組立て性、生産性が大幅に向上する利点がある。

【0013】なお、図1に示すように、キャピラリ1はウィンド基板2において貫通窓6を形成した領域のポリイミド樹脂10が除去されているが、ポリイミド樹脂10の除去する領域はこれに限るものではない。また、キャピラリ1の被覆材としてはポリイミド樹脂10に限る必要はなく、ポリイミド樹脂10と同等の電気絶縁性、およびその他諸特性をもつ部材を用いてもよい。

【0014】（第2の実施形態）図5、6はレーザ入射窓12を設け、これに光ファイバ100を挿入する方式である。入射窓のサイズを光ファイバの径に合わせて設計することにより、精密に位置合わせすることができ、この実施例は、隔たった場所からレーザ光を入射させる方式に比べ、簡単で確実にレーザ光を入射できる利点がある。

10

20

30

40

50

【0015】次に、図7を用いてウィンド基板2の加工方法を示す。ここでは、基板材料として単結晶シリコン基板を用いた。まず、シリコン基板2に熱酸化膜201を形成し(①)、レジスト塗布してから露光・現像を行い、HF溶液で酸化膜エッチングする(②)。次にKOHなどのアルカリ溶液により異方性エッチングをし(③～④)、最後に酸化膜201を除去する(⑤)。単結晶シリコン及び異方性エッチングを用いたのは、 μm 単位の加工精度を持つので、キャピラリの配列や窓部6、12あるいは遮光領域7の寸法をプロセス条件を設定するだけで簡単に規定できるからである。また、このエッチング技術を用いることにより、安価で量産することが可能である。ここで、エッチングマスク材は熱酸化膜201に限ったものではなく、窒化シリコン膜などでも良い。

【0016】（第3の実施形態）キャピラリアレイ・ユニットの構成を図8に示す。キャピラリ1、ウィンド・ユニット29、緩衝液注入口30、保護カバー付き電極板31、導電性蛍光試料注入口32などから構成され、ウィンド・ユニット29として、（第1の実施形態）に示したウィンド・ユニットを用いる。実用上、キャピラリは数回～十数回の使用で交換され、消耗品として扱われるので、この様にユニット化することにより、装置への付替えを簡単にできるメリットがある。またユーザの取付けミスなども未然に防止できる効果がある。

【0017】（第4の実施形態）図9は、本発明の第4の実施形態であるキャピラリアレイ電気泳動装置の説明図を示す。キャピラリアレイ電気泳動装置は、第3の実施形態に示したキャピラリアレイ・ユニット、緩衝液容器17、蛍光試料容器18、高電圧電源19、レーザ光源20、ミラー21、ビームスプリッター22、集光レンズ23、第1レンズ24、光学フィルター及び像分割プリズム25、第2レンズ26、CCDカメラ27、演算処理装置28などにより構成される。レーザ光源20により発生するレーザ33はビームスプリッター22により2分割され、ミラー21により進行方向が変更される。集光レンズ23によりレーザ33は集光され、キャピラリ1に照射する。キャピラリ1の内部は蛍光標識された試料（蛍光試料34）で満たされており、レーザ33を試料34に照射することにより、出力として蛍光35が発生する。この蛍光を第1レンズ24により平行光にし、光学フィルタ及び像分割プリズム25により像分割をした後、第2レンズ26によりCCDカメラ27に結像させる。画像データとして取り込まれた信号（蛍光）を処理演算装置28で解析する。

【0018】なお、図9においては、レーザ33はウィンド・ユニット29の両側から照射しているが、片側のみ照射させる構成でもよく、キャピラリアレイ・ユニットのキャピラリ1の本数は16本に限るものではない。

【0019】次にキャピラリアレイ電気泳動装置の動作

原理を説明する。緩衝液容器17に入っている緩衝液36を、キャピラリアレイ・ユニットの注入口30からキャピラリ1内に注入する。次に蛍光試料34で満たされた試料容器18に導電性の試料注入口32を入れ、キャピラリ1内に蛍光試料34を注入する。その後、試料注入口32を緩衝液の入った容器(図では省略)に入れ、注入口30と電極部31との間に電圧19を印加することにより、電気泳動を生じさせる。電気泳動の移動速度は分子の電荷量に比例し、分子の大きさに逆比例するので蛍光試料34は分離される。高電圧を印加し続けて、この時に発光する蛍光35を連続的に測定する。

【0020】ウィンド・ユニットに遮光領域7を設けたことにより、キャピラリ1の表面で反射される反射光が遮られるため、背景光を低減させることができ、S/N比を向上させることができる。さらにウィンド・ユニット29の側面にレーザ入射窓12を設けたことにより許容入射角が大きくなり、光学系(20~23)の配置裕度が広がるメリットがある。

【0021】(第5の実施形態)図10は、本発明の第5の実施形態であるキャピラリアレイ電気泳動装置の説明図である。入射光の光学系として光ファイバ100及び光分岐器101を用いている。本実施形態はウィンド・ユニット29の両側面の入射窓12に光ファイバ100を挿入したものであり、光学系が簡単になる。特に入射光とキャピラリとのアライメント(位置合わせ)が確実にできるメリットがある。

【0022】

【発明の効果】キャピラリアレイ電気泳動装置において、キャピラリアレイ用の保持基板に各キャピラリ毎に遮光領域をもつ発光用の窓と、励起レーザ光入射用の窓を形成したことにより、背景光を低減しS/N比を向上させることができる。さらにレーザ光の入射を容易にし光学系の配置に裕度を持たせ、組立を簡単にする効果がある。

【図面の簡単な説明】

【図1】本発明の第1の実施形態であるウィンド・ユニ

* ットを示す図である。

【図2】図1のウィンド基板の説明図である。

【図3】図2の概略断面図であり、(a)はレーザ照射部、(b)はレーザ非照射部である。

【図4】ウィンド基板にレーザ入射部の無い場合の概略断面図である。

【図5】図1の別のウィンド基板の説明図である。

【図6】ウィンド基板のレーザ入射部を光ファイバ固定溝として用いた第2の実施形態を示す図である。

【図7】ウィンド基板材としてシリコンを用いた場合の製造工程例を示す図である。

【図8】ウィンド・ユニットとキャピラリ、電極を含むキャピラリアレイ・ユニット(実施形態3)の例を示す図である。

【図9】キャピラリアレイ電気泳動装置(実施形態4)の説明図である。

【図10】キャピラリアレイ電気泳動装置(実施形態5)の説明図である。

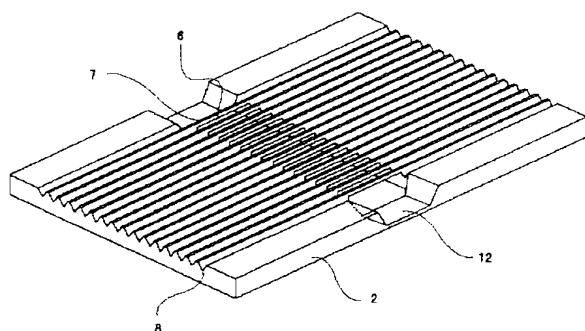
【図11】本発明の第1の実施形態での蛍光測定結果の説明図である。

【符号の説明】

1…キャピラリ、2…ウィンド基板、3…ガラス基板、4…レーザ照射部、5…レーザ非照射部、6…貫通窓、7…遮光枠、8…V溝、9…溶融石英管、10…ポリイミド樹脂、11…すりガラス面、12…照射用窓、17…緩衝液容器、18…蛍光試料容器、19…高電圧電源、20…レーザ光源、21…ミラー、22…ビームスプリッター、23…集光レンズ、24…第1レンズ、25…光学フィルタ及び像分割プリズム、26…第2レンズ、27…CCDカメラ、28…処理演算装置、29…ウィンド・ユニット、30…緩衝液注入口、31…保護カバー付き電極板、32…導電性蛍光試料注入口、33…レーザ、34…蛍光試料、35…蛍光、36…緩衝液、100…光ファイバ、101…光分岐器、201…シリコン酸化膜またはシリコン窒化膜、202…エッチング溝。

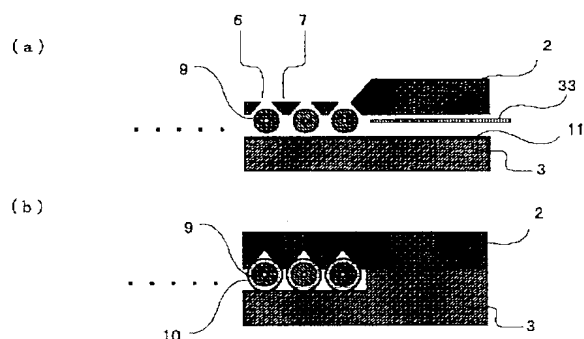
【図2】

図 2



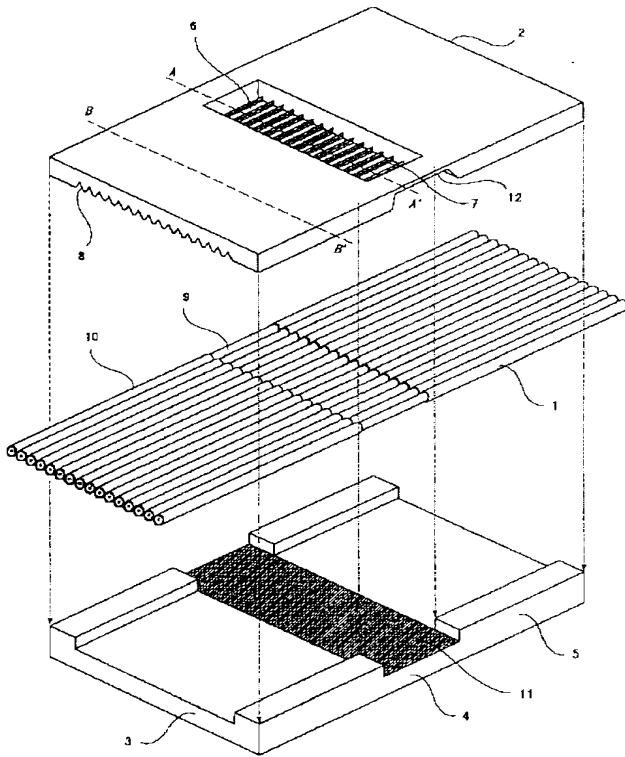
【図4】

図 4



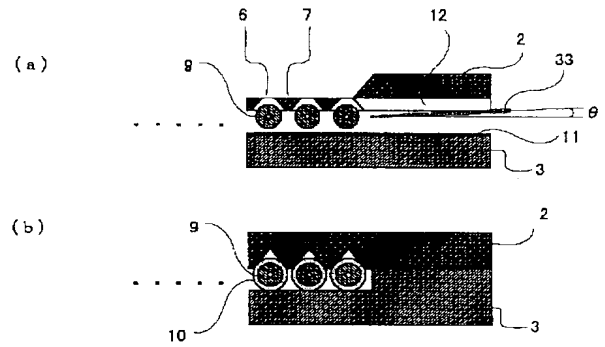
【図1】

図 1



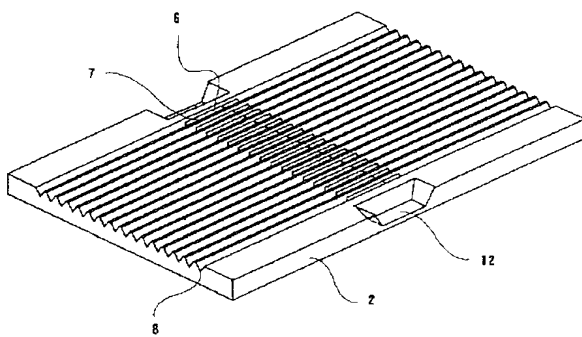
【図3】

図 3



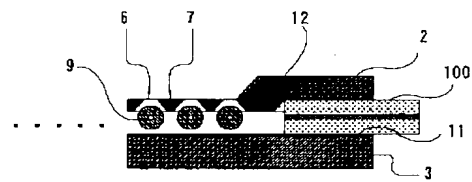
【図5】

図 5



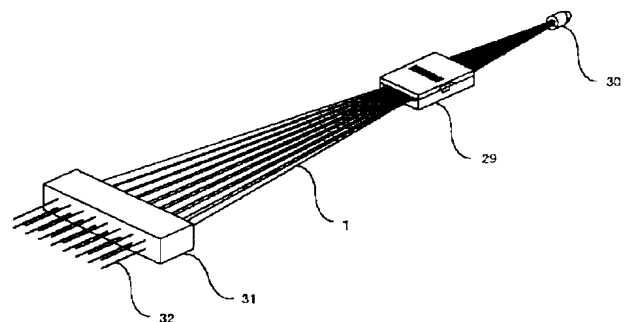
【図6】

図 6



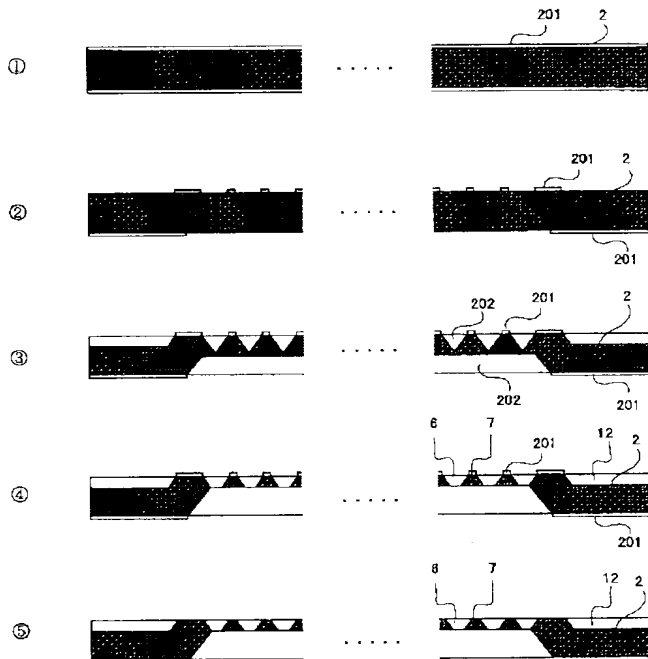
【図8】

図 8



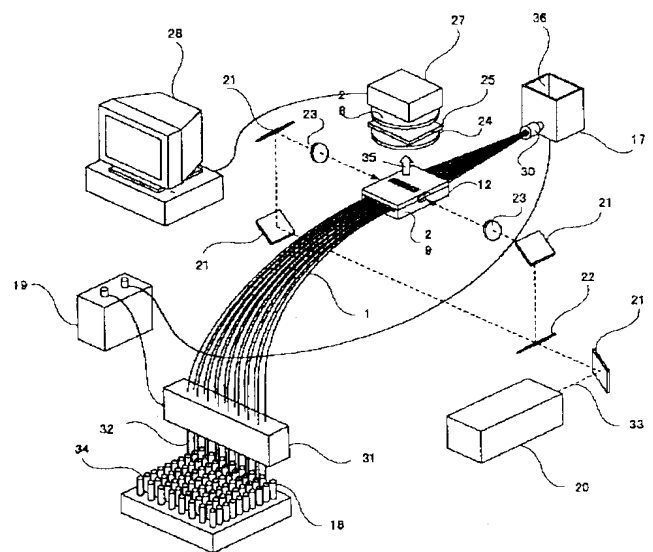
【図 7】

7



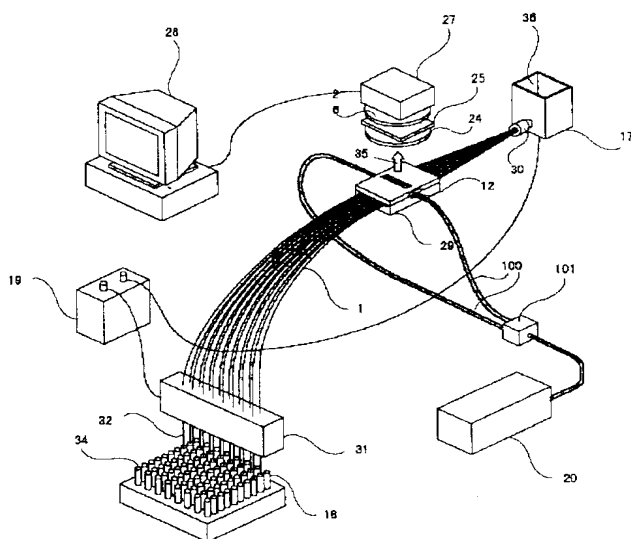
【图 9】

9



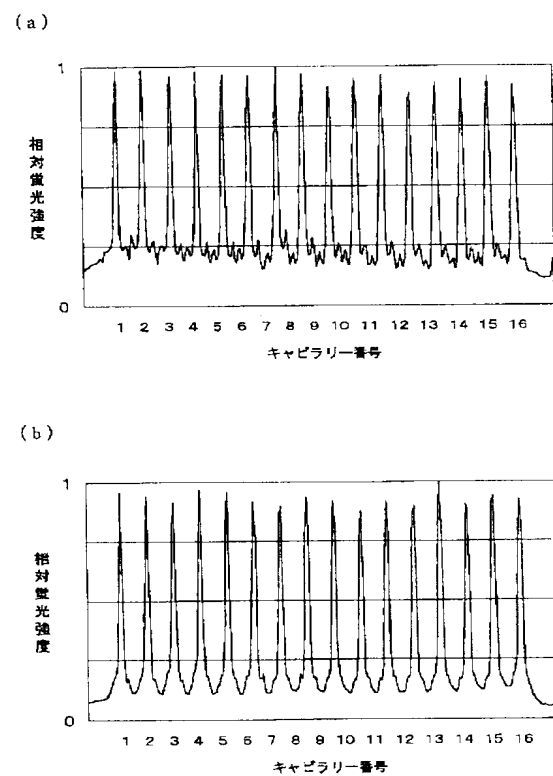
【图 10】

10



【图 1-1】

11



フロントページの続き

(72)発明者 清水 康司
茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株
式会社日立製作所計測器グループ内

(72)発明者 喜多 敏昭
茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株
式会社日立製作所計測器グループ内

(72)発明者 塚田 清司
茨城県ひたちなか市大字市毛882番地 株
式会社日立製作所計測器グループ内